



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E FÍSICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

JOABEL FREIRE DIAS JUNIOR

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO
ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE DAPSONA EM FORMAS
FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

AREIA, PB

2017

JOABEL FREIRE DIAS JUNIOR

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO
ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE DAPSONA EM FORMAS
FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal da Paraíba
como requisito parcial à obtenção do título
de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Rufino

AREIA, PB

2017

*Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, campus II, Areia - PB*

D541d *Dias Junior, Joabel Freire.*

*Desenvolvimento e validação de um método espectrofotométrico para
determinação de dapsona em formas farmacêuticas sólidas / Joabel Freire
Dias Junior. - Areia: UFPB/CCA, 2017.*

xii, 29 f. : il.

*Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química) - Centro de
Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.*

Bibliografia.

Orientador: José Luiz Rufino.

*1. Química analítica 2. Medicamento – Controle de qualidade – Dapsona
3. Espectrofotometria – Formas farmacêuticas sólidas I. Rufino, José Luiz
(Orientador) II. Título.*

UFPB/CCA

CDU: 543

JOABEL FREIRE DIAS JUNIOR

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO
ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE DAPSONA EM FORMAS
FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Química da Universidade Federal da Paraíba
como requisito parcial à obtenção do título
de Bacharel em Química.

Aprovado em: 02/08/2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Luiz Rufino (Orientador)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Maria Betania Hermenegildo dos Santos (Examinadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles (Examinadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Aos meus pais, irmãos, sobrinhos, toda a minha família e todos os meus amigos que por muitas vezes me deram apoio e carinho, fazendo com que esse trabalho fosse realizado, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Prof. Dr. José Luiz Rufino por toda discussão científica, orientação e amizade.

A todos os professores que contribuíram para minha formação profissional.

A minha família, que sempre esteve ao meu lado, me dando suporte, carinho e confiança.

Aos meus amigos de laboratório: Camila Gonçalves e Leandro dos Santos pela ajuda e amizade.

Aos meus amigos de curso, pelo apoio, incentivo e amizade.

A todos os meus amigos que estiveram presente, agradeço a amizade e o carinho que sempre me disponibilizaram.

A técnica de laboratório Tereziana, pela amizade e ajuda sempre que solicitada.

E todos as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“A satisfação está no esforço e não apenas na realização final”. (Mahatma Gandhi)

RESUMO

O controle de qualidade é essencial em todas as etapas de produção de um medicamento, uma vez que o seu objetivo é verificar se o produto está nos padrões exigidos pelas farmacopeias. Uma das etapas realizadas neste controle é a quantificação de dapsona em formas farmacêuticas sólidas, para esta determinação deve-se utilizar metodologias analíticas validadas que gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método analítico para determinação de dapsona em formas farmacêuticas sólidas com detecção espectrofotométrica na região do visível. O método foi baseado na reação da dapsona com ácido nitroso, formando um diazo que reage com o agente cromogênico 8-oxiquinolina em meio alcalino de NaOH, produzindo um composto de coloração vermelha que absorve fortemente em 510 nm, com absorvidade molar de $5,94 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os parâmetros experimentais foram cuidadosamente estudados e otimizados através do método univariado. A curva analítica apresentou boa linearidade com concentração entre $1,62 \times 10^{-6}$ a $1,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e correlação de 0,9998. Os limites de detecção e quantificação foram de $7,05 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,35 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Para o estudo de efeito de matriz foi utilizado o método de adição de padrão, onde a porcentagem de recuperação foi de 96,9 a 102,0%, o qual evidencia que não houve interferência dos excipientes utilizados. O método foi aplicado com sucesso na determinação da dapsona em duas formulações farmacêuticas sintéticas, o qual apresentou erro de -1,0 a +0,3, comparado com o valor esperado e coeficiente de variação de 0,6 e 1,0% para as amostras com intervalo de confiança de 95%.

Palavras-chave: Controle de qualidade, dapsona, espectrofotometria, formas farmacêuticas sólidas.

ABSTRACT

The quality control is essential at all stages of production of a drug, once your goal is to verify that the product is in the standards required by the pharmacopoeias. One of the steps taken in this control is the quantification of dapsone in solid pharmaceutical forms, for this determination should be used analytical methodologies validated that generates information reliable and interpretable on the sample. Against the foregoing, this study aimed to develop and validate an analytical method for the determination of dapsone in solid pharmaceutical forms with spectrophotometric detection in the visible. The method is based on the reaction of the dapsone with nitrous acid, forming a diazo which reacts with the agent chromogenic 8-oxyquinoline in alkaline solution of NaOH, producing a compound of red color which absorbs strongly at 510 nm with molar absorptivity of $5.94 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The experimental parameters were carefully studied and optimized using the method the univariate. The analytical curve showed good linearity in the range of concentration of 1.62×10^{-6} to $1.95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ with correlation of 0.9998. The limits of detection and quantification were $7.05 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ and $2.35 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectively. For the study of the effect of matrix was used the method of standard addition, where the percentage of recovery was from 96.9 to 102.0%, which highlighted the fact that there was no interference from excipients used. The method was successfully applied to the determination of dapsone in two synthetic pharmaceutical formulations, which showed an error of -1.0 to +0.3, compared with the expected value and coefficient of variation of 0.6 and 1.0% for samples with 95% confidence interval.

Keywords: Quality control, dapsone, spectrophotometry, solid pharmaceutical forms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural da dapsona.	14
Figura 2 – Composto de coloração vermelha formado pela reação da dapsona com os demais reagentes.	26
Figura 3 - Mecanismo proposto para a reação de diazotação da dapsona com o reagente cromogênico 8-oxiquinolina em meio alcalino.....	27
Figura 4 - Gráfico do estudo da estabilidade do composto formado com a dapsona em banho de gelo.....	29
Figura 5 - Gráfico do estudo da estabilidade do composto formado com a dapsona a temperatura ambiente (25 °C).	29
Figura 6 - Gráfico da otimização do NaNO ₂	30
Figura 7 - Gráfico da otimização do HCl.....	31
Figura 8 - Gráfico da otimização da 8-oxiquinolina.....	31
Figura 9 - Gráfico da otimização do NaOH.....	32
Figura 10 - Curva analítica para determinação da dapsona.	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições estudadas e otimizadas do método.....	32
Tabela 2 – Resultado das figuras de mérito do método.....	33
Tabela 3 – Resultado da adição de padrão da dapsona.....	34
Tabela 4 – Resultado obtido pela aplicação do método	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – Absorbância

a – Coeficiente linear

ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária

b – Coeficiente angular

(b) – Caminho óptico

C – Concentração

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CV – Coeficiente de Variação

DDS – Dapsona

(ϵ) – Absortividade molar

E – Erro absoluto

HCl – Ácido clorídrico

IC – Intervalo de confiança

LOD – Limite de detecção

LOQ – Limite de quantificação

N – Número de medidas

NaNO₂ – Nitrito de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

OMS – Organização Mundial de Saúde

P – Potência de radiação após atravessar o analito

P₀ – Potência do feixe de luz incidente

R – Coeficiente de correlação

Sb – Desvio padrão

T – Transmitância

UV – Ultravioleta

VIS – Visível

$\lambda_{\text{máx}}$ – Comprimento de onda de máxima absorbância

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral:	17
2.2 Objetivos Específicos:.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1 Métodos para determinação de dapsona.....	18
3.2 Espectrofotometria de absorção molecular	20
4 PARTE EXPERIMENTAL	22
4.1 Materiais e equipamentos	22
4.2 Reagentes	22
4.3 Preparo das soluções e reagentes	22
4.4 Estudo da reação e determinação do comprimento de onda de máxima absorbância	23
4.5 Estudo da estabilidade óptica dos produtos.....	23
4.6 Otimização das condições experimentais	23
4.7 Validação do método	23
4.8 Amostra	24
4.8.1 Preparo da amostra	25
4.9 Estudos de interferentes	25
4.10 Estudo de efeito de matriz.....	25
4.11 Aplicação analítica	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 Estudo da reação e determinação do comprimento de onda de máxima absorbância	26
5.2 Estudo da estabilidade óptica dos produtos.....	28
5.3 Otimização das variáveis	30
5.4 Construção da curva analítica	33
5.5 Estudo de interferentes	34
5.6 Estudo de efeito de matriz.....	34
5.7 Aplicação analítica.....	35
6 CONCLUSÕES	36
7 REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O controle de qualidade é de fundamental importância em todas as etapas de produção de um medicamento. A análise apropriada das matérias-primas, dos produtos intermediários e do produto final, associado ao controle dos processos de produção, é essencial para que a qualidade do medicamento seja eficiente e seguro (PUGENS et al., 2008).

De acordo com Peixoto et al., (2005) apud Lachman et al., (2001) para controlar a qualidade da produção dos medicamentos é essencial a realização de avaliações qualitativas e quantitativas das propriedades químicas e físicas destes.

O controle de qualidade é uma avaliação realizada com o objetivo de verificar se o produto está nos padrões exigidos pelas farmacopeias. Caso isso não ocorra, pode resultar para a empresa, além dos prejuízos decorrentes do retrabalho, a perda da credibilidade e até a cassação da licença de funcionamento e do registro do produto. É ainda, mais grave para o paciente, que devido à falta de qualidade do medicamento, pode resultar em sérios transtornos com o comprometimento da sua saúde (PEIXOTO et al., 2005).

Para que a qualidade do medicamento final seja o melhor possível, é necessário utilizar metodologias analíticas que visem a quantificação dos mesmos, resultando em valores confiáveis e seguros. Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação. A validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento (RIBANI et al., 2004).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA, o objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos. A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação, exatidão, adequados à análise (BRASIL, 2003).

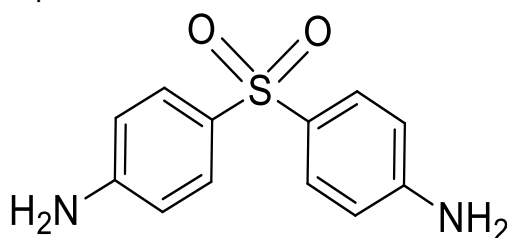
Desta forma, os medicamentos são objetos de preocupação e de inúmeros estudos feitos mundialmente, desde sua produção até o seu consumo (CASTILHO et al., 1999). Dentre esses medicamentos estudados podemos citar os antimicrobianos que são substâncias produzidas por bactérias ou fungos, ou podem ser total ou parcialmente sintéticos. Esses antimicrobianos tem a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos, ou destruí-los (MOTA et al., 2005).

Existem diversos tipos de antimicrobianos, tais como: sulfonamidas (ALABURDA et al., 2007), quinolonas (JACKSON et al., 1998), glicopeptídeos (SPERANÇA et al., 2010), macrolídeos (ZETTLER et al., 2005), aminoglicosídeos (OLIVEIRA et al., 2006) dentre outros.

No grupo das sulfonamidas estão presentes vários princípios ativos que são antimicrobianos bacteriostáticos, como: sulfanilamida (ALTENHEIN, 1948), sulfacetamida (LYNCH et al., 1997), sulfadiazina (RAGONHA et al., 2005), dapsona (LETA et al., 2003).

A dapsona (4,4-diaminodifenilsulfona) é um fármaco essencialmente bacteriostático, um pó cristalino, branco ou amarelado, com sabor levemente amargo e inodoro. É praticamente insolúvel em água e ligeiramente solúvel em etanol, sua fórmula molecular é $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, massa molar de 248,30 g/mol e sua fórmula estrutural está representada na figura 1 (RIVITTI, 2014; FARMACOPEIA, 2000).

Figura 1 - Fórmula estrutural da dapsona.



Fonte: De Moraes et al., (2008).

A dapsona é utilizada no tratamento de hanseníase (ARAÚJO, 2003) e em outros tipos de doenças como pênfigo vulgar oral (BERNABÉ et al., 2005), pneumonia por *Pneumocystis carinii* (MEDINA et al., 1990), erupção bolhosa do lúpus eritematoso sistêmico (HALL et al., 1982; RUZICKA e GOERZ, 1981), rinosporidiose (JOB et al., 1993), malária (MUTABINGWA et al., 2001), entre outros.

Em 1991 a Organização Mundial de Saúde (OMS) aprovou a Resolução XIV que estabelecia como meta a eliminação da hanseníase como problema de saúde pública, através do tratamento utilizando associação da Dapsona (DDS), rifampicina e clofazimina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). A hanseníase é uma doença neurológica crônica, resultante da infecção com o patógeno intracelular *Mycobacterium leprae*, este tem o tempo de duplicação mais longa de todas as bactérias conhecidas e tem impedido todos os esforços de cultura em laboratórios (COLE, et al., 2001).

Pesquisas realizadas de 2004 a 2011 pela OMS, mostram o Brasil como o segundo país com maior número de casos de hanseníase no mundo, superado apenas pela Índia. Embora o controle da hanseníase tenha melhorado nos países endêmicos, novos casos continuam surgindo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012).

Há vários casos relatados de reações adversas a administração de DDS no tratamento de hanseníase como metemoglobinemia (TOKER et al., 2015), acometimento hepático (DOURADO et al., 2013), agranulocitose (CARNEIRO et al., 2011), hepatotoxicidade, entre outros (MARQUES et al., 2012).

A dose da dapsona em comprimidos é de 100 mg, e quando ingerida é quase totalmente absorvida pelo trato gastrointestinal, distribuindo-se pelo organismo. Seu metabolismo é dado pela acetilação pela n-acetiltransferase no fígado. Distribui-se pelos tecidos, e possui um tempo de meia vida de cerca de 28 horas. Sua eliminação dá-se de 70% a 85% pela urina e por via biliar (OPROMOLLA, 2016; FUNDAÇÃO PARA O REMÉDIO POPULAR, 2015).

Uma dose desse medicamento menor do que a recomendada pode acarretar em uma não eliminação completa dos agentes causadores da enfermidade, podendo vir a desenvolver resistência ao medicamento, que é um dos maiores problemas na medicina atualmente (MOTA et al., 2005).

Assim, a necessidade de determinar o princípio ativo em formulações farmacêuticas tem grande importância para garantir a genuinidade dos produtos com denominação de origem, tornando-se indispensável a disponibilidade de métodos e equipamentos analíticos que ofereçam resultados confiáveis de maneira simplificada, rápida e com baixo custo (RUFINO, 2009).

Dentro deste contexto, a química analítica é uma área que centraliza a responsabilidade pelo desenvolvimento de novas metodologias de análise aplicáveis nos mais variados campos da pesquisa científica. Esta contínua procura pelo estabelecimento de metodologias adequadas para os diversos tipos de necessidades tem propiciado um significativo desenvolvimento da área, assim como tem sido fundamental para o progresso científico de outras (RUFINO, 2004).

Desta forma, é bastante significativo o aporte que a Química Analítica tem dado a indústria, principalmente no que diz respeito ao estabelecimento de ferramentas capazes de serem aplicadas em rotinas nos laboratórios de controle de qualidade e de processos de produção (RUFINO, 2004).

Portanto, o presente trabalho visou desenvolver uma metodologia de baixo custo, de fácil operação, rápida, sensível e seletiva para determinação de dapsona em formas farmacêuticas sólidas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Desenvolver e validar um método analítico rápido, simples, sensível e de baixo custo, utilizando a espectrofotometria na região do visível para determinação de dapsona em formas farmacêuticas sólidas.

2.2 Objetivos Específicos:

- Utilizar a espectrofotometria para a determinação da dapsona na região visível do espectro eletromagnético após derivatização do mesmo com o reagente cromogênico 8-oxiquinolina.
- Otimizar os parâmetros experimentais envolvidos no método proposto e posterior validação da metodologia desenvolvida através da investigação de suas características de desempenho (seletividade, sensibilidade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, faixa de aplicação).
- Aplicar o método na determinação de dapsona em amostras de formas farmacêuticas sólidas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Métodos para determinação de dapsona

De Moraes et al., (2008) determinaram dapsona em plasma por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por absorbância no ultravioleta em $\lambda_{\text{máx}} = 286$ nm. Utilizando coluna de fase reversa C8 e fase móvel foi constituída por água:metanol (65/35 v/v), com fluxo de 1,2 mL / min.

Lemnge et al., (1993) determinaram dapsona em sangue e plasma por cromatografia líquida de alta eficiência com absorção no ultravioleta. A curva padrão foi preparada por análise em duplicata de 150 μL de amostras de sangue total ou plasma, após a extração das amostras com hidróxido de sódio (2M) e 100 mL de éter terc-butilmetil. Houve uma boa linearidade da curva analítica entre 400-3200 ng mL⁻¹, com coeficiente de correlação de 0,997 e o limite de detecção foi de 10 ng L⁻¹.

Omran, (2005) desenvolveu um método para determinação de dapsona em formulações farmacêuticas puras e em dosagem. O método é baseado na reação de diazotação da dapsona com um agente de acoplamento benzoilacetona em meio alcalino. O corante apresentou máximo de absorção em 437 nm e absorvidade molar em $4,14 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Sua determinação foi feita por espectrofotometria derivativa de primeira ordem. O método apresentou curva analítica com linearidade entre 0,9-15,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Um método para determinação de dapsona em formulações farmacêuticas por espectrofotometria foi descrito por Wang et al., (2004). O método é baseado na reação da dapsona com um agente cromogênico 1,2-naftoquinona-4-sulfônico em solução tampão pH 6,98, formando um composto de cor rosa salmão, com comprimento máximo de absorbância em 525 nm e absorvidade molar de $3,68 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A curva analítica apresentou linearidade ($R = 0,9998$) entre 0,40-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o limite de detecção foi de 0,24 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Ma et al., (2002) realizaram um estudo espectrofotométrico de fluorescência para determinação de dapsona. A dapsona forma um complexo supramolecular com β -ciclodextrina com presença ou ausência de álcoois lineares. A curva analítica mostrou-se linear no intervalo de 3,39 a 1,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com limite de detecção de 1,02 ng mL⁻¹ e coeficiente de correlação de 0,9998.

Kwadijk e Toraño, (2002) determinaram dapsona em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta. O plasma humano foi desproteinizado com acetona e a solução sobrenadante foi evaporada até a secar sob uma corrente de nitrogênio a 70 °C, o resíduo foi redissolvido em 288 µL da mistura do eluente HPLC e acetona (18:5, v/v). Uma alíquota foi analisada por CLAE e detectado no ultravioleta com comprimento de onda de 295 nm. A curva analítica apresentou linearidade ($R = 0,99988$) entre 0,301-20,0 mg L⁻¹ e o limite de detecção foi de 0,002 mg L⁻¹.

Carr et al., (1978) desenvolveram um método para determinação de dapsona em plasma por cromatografia líquida de alta eficiência. O plasma foi coletado em um tubo, misturado com 100 µL de água e 2 µg de MPD como padrão interno, adicionado 100 µL de NaOH 1N, 400 µL de água e 10 mL de éter dietílico para a construção da curva analítica, em seguida o tubo foi selado e centrifugado, 7 mL da fase orgânica foi transferida para um frasco e realizado a evaporação do solvente com nitrogênio a 30 °C. Foram adicionados 300 µL do solvente da fase móvel (água, acetonitrila, ácido acético, 1000: 300: 25 v / v / v) para dissolver o resíduo e uma alíquota foi injetada para análise por CLAE. O método apresentou boa linearidade entre 0,05-5 µg mL⁻¹ e o limite de detecção ficou abaixo de 20 ng mL⁻¹.

Moncrieff, (1994) determinou dapsona em soro e saliva usando cromatografia líquida de fase reversa com detecção no ultravioleta e eletroquímica. A amostra apresentou comprimento de onda de máxima absorção em 295 nm pela detecção no ultravioleta e obteve-se melhor resposta em 0,7 V pela detecção eletroquímica. A curva analítica apresentou linearidade para ambos detectores e o limite de detecção foi 25 ng mL⁻¹ e 200 pg mL⁻¹ para o UV e eletroquímica, respectivamente.

Um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção quimiluminescente usando um polímero com impressão molecular para determinação de dapsona foi proposto por Lu et al., (2012). O método é baseado no revestimento do polímero com SiO₂, em seguida a dapsona foi exposta ao polímero. A curva apresentou linearidade entre $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e limite de detecção foi de $5,27 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹.

Revanasiddappa e Manju, (2001) desenvolveram um método espectrofotométrico rápido, sensível e seletivo para determinação quantitativa de

dapsona em medicamentos puros e em dosagem. A dapsona diazotada reage com o agente de acoplamento dibenzoilmetano em meio alcalino. Seu comprimento de onda de máxima absorbância foi em 470 nm e sua absortividade molar foi de $1,71 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, as variáveis foram otimizadas, não houve interferência dos excipientes e este método foi testado em relação a um método de referência.

Um método para determinação de dapsona em carne e leite por cromatografia líquida em espectrômetro de massa em tandem foi desenvolvido por Hadjigeorgiou et al., (2001). As amostras foram extraídas com solvente orgânico e purificadas em cartuchos de extração de fase sólida de sílica gel. Em seguida o eluato foi evaporado e redissolvido em fase móvel e analisado. O valor da capacidade de quantificação é de $0,16 \mu\text{g kg}^{-1}$ e o limite de decisão de $0,12 \mu\text{g kg}^{-1}$.

3.2 Espectrofotometria de absorção molecular

A espectrofotometria de absorção molecular é uma técnica que mede a quantidade de luz (fótons) absorvida pela amostra em função do seu comprimento de onda. Uma grande quantidade de espécies possui grupos funcionais que podem absorver um comprimento de onda característico. Esses grupos são denominados cromóforos, eles são sistemas de ligações duplas conjugadas que possuem a capacidade de absorver radiação na região do visível (MARTINS et al., 2015). Esse processo de absorção é descrito pela lei de absorção, também conhecida como lei de Lambert-Beer ou lei de Beer. Esta lei estabelece que quando um feixe de luz atravessa um caminho contendo a espécie absorvente há um decréscimo na intensidade do feixe de luz na mesma proporção que o analito é excitado, quanto maior a concentração do analito, maior será sua absorção de radiação (SKOOG et al., 2006).

A lei de Beer relaciona a medida transmitância $T = P/P_0$ (onde P_0 é a potência do feixe de luz incidente, P é a potência da radiação após atravessar o analito e T é a transmitância). Esta lei também pode ser expressa pela absorbância (A), onde a mesma é função inversa logarítmica da transmitância (T), de forma que, quando a absorbância de uma solução aumenta, a transmitância diminui. De acordo com a lei de Beer, a absorbância é proporcional a concentração (c) de uma espécie absorvente em mol L^{-1} , a (ϵ) denominado absortividade molar em $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o caminho óptico (b) em cm do meio absorvente (SKOOG et al., 2006; HARRIS, 2010):

$$A = \log (P/P_0) = - \log T = \epsilon bc \quad (\text{Equação 1})$$

Esta técnica é uma das mais utilizados principalmente para análises quantitativas e é aplicada nos laboratórios químicos e clínicos ao redor do mundo mais que qualquer outro método. O que a torna tão utilizada são suas características, que facilitam as análises e aumentam o número de áreas de estudo que podem fazer uso desta técnica (SKOOG et al., 2006):

1. Aplicabilidade ampla. Grande número de substâncias inorgânicas, orgânicas e bioquímicas absorvem radiação ultravioleta ou visível. Caso alguma espécie não absorva nessa faixa, ela pode ser convertida quimicamente e posteriormente determinada seu derivado absorvente.
2. Alta sensibilidade. Com certas modificações no procedimento, o limite de detecção da espectroscopia de absorção pode ser estendido para 10^{-7} ou 10^{-8} .
3. Seletividade entre moderada e alta. Dependendo do analito utilizado, pode-se determinar o comprimento de onda sem qualquer separação preliminar.
4. Boa exatidão. Os erros relativos dos métodos espectrofotométricos estão na faixa de 1 a 5%, podendo ser reduzido com algumas precauções.
5. Facilidade e conveniência. As análises são rápidas e muito fáceis de realizar, podendo até ser automatizadas.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais e equipamentos

- Balança analítica Marte, modelo AW-220;
- Espectrofotômetro FEMTO Cirrus 80MB;
- Micropipetas de (10 – 100 μL); (100 – 1000 μL) e de (1000 – 5000 μL)
- Papel de filtro qualitativo QUALY (gramatura 80 g / m^2 , poros 14 μm , espessura 205 μm);
- Vidrarias de consumo.

4.2 Reagentes

- 8-oxiquinolina (Riedel-de Haen A-G, Alemanha);
- Ácido clorídrico PA (NEON, Brasil), Pureza 37%;
- Dapsona (Henrifarma, Brasil), Pureza 100,2 %;
- Excipientes de grau farmacêutico (amido de milho, lactose monohidratada, lauril sulfato de sódio);
- H_2O destilada;
- Nitrito de sódio cristalizado (Proquímicos, Brasil);
- Hidróxido de sódio PA (Dinâmica, Brasil).

4.3 Preparo das soluções e reagentes

a) Solução dapsona - DDS, 10 mg / 50 ml ($8,05 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$): Esta solução foi preparada através da dissolução de 0,01 g de DAP, em 2 mL de etanol e completado o volume para 50 mL e mantida em um tubo de ensaio com água destilada.

b) Solução de ácido clorídrico - HCl ($1,80 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$): Esta solução foi padronizada a partir de uma solução de hidróxido de sódio, utilizando um volume de 9 mL de HCl e completando para 500 mL, a solução é armazenada em um frasco de vidro.

c) Solução de nitrito de sódio – NaNO_2 ($1,04 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$): Esta solução é preparada através da dissolução de 0,36 g de nitrito de sódio em 50 mL água destilada em balão aferido.

d) Solução de hidróxido de sódio - NaOH ($2,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$): Esta solução foi padronizada a partir de uma solução de biftalato de potássio, dissolvendo 4,4 g de hidróxido de sódio e completando para 500 mL, a solução é armazenada em um frasco de plástico.

e) Solução de 8-oxiquinolina, 50 mg / 50 ml ($7,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$): Esta solução foi preparada através da dissolução de 0,05 g de 8-oxiquinolina em etanol.

4.4 Estudo da reação e determinação do comprimento de onda de máxima absorbância

Inicialmente, foram realizados estudos para verificação da reação de diazotação da dapsona com nitrito de sódio em meio ácido e posterior acoplamento com a 8-oxiquinolina na presença de hidróxido de sódio. Para determinação do comprimento de onda de máxima absorbância ($\lambda_{\text{máx}}$) realizou-se a varredura do espectro eletromagnético no espectrômetro UV-Vis de 200 nm à 800 nm com caminho óptico de 1 cm.

4.5 Estudo da estabilidade óptica dos produtos

Realizou-se o estudo da estabilidade óptica dos produtos formados pela reação em banho de gelo e a temperatura ambiente (25 °C) durante 60 minutos.

4.6 Otimização das condições experimentais

As condições experimentais foram otimizadas através do método univariado (OLIVIERI et al., 2006) e o programa Origin 6.0 foi utilizado para tratamento dos dados obtidos.

4.7 Validação do método

O método proposto foi validado a partir da avaliação dos parâmetros de: linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão e exatidão.

A linearidade está relacionada com a capacidade que o método possui em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito, em uma certa faixa de aplicação (ICH et al., 2005).

O limite de detecção é a mais baixa concentração do analito que pode ser distinguida de forma confiável e o limite de quantificação é menor concentração do analito que pode ser quantificada com precisão e em níveis aceitáveis (SKOOG et al., 2006; ICH et al., 2005):

$$\text{LOD} = 3,3 \sigma / s \quad (\text{Equação 2})$$

$$\text{LOD} = 10 \sigma / s \quad (\text{Equação 3})$$

onde “ σ ” é o desvio padrão do branco e “ s ” é o coeficiente angular da reta.

O erro absoluto de uma medida é a diferença entre o valor analisado e o valor verdadeiro da medida (SKOOG et al., 2006):

$$E = x_i - x_v \quad (\text{Equação 4})$$

onde “ x_i ” é o valor analisado e o “ x_v ” é o valor verdadeiro.

O coeficiente de variação (CV) é o desvio padrão relativo em termos percentuais (SKOOG et al., 2006; GARCIA, 1989):

$$\text{CV} = (s / \bar{x}) \cdot 100\% \quad (\text{Equação 5})$$

onde “ s ” é o desvio padrão e “ \bar{x} ” é média das medidas.

E o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) é a faixa entre os quais se espera que a média da medida x esteja contida em um certo grau de probabilidade (SKOOG et al., 2006):

$$\text{IC para } x = \bar{x} \pm (t \cdot s) / \sqrt{N} \quad (\text{Equação 6})$$

onde “ \bar{x} ” é a média das medidas, “ t ” é o valor relacionado ao nível de confiança, “ s ” é o desvio padrão e “ N ” é o número de medidas.

4.8 Amostra

A utilização desse medicamento é controlada pela vigilância sanitária, com o intuito de realizar o controle da quantidade de pessoas que possuem hanseníase (BOSCHEN et al., 2014), devido a isso, foi necessário manipular as amostras a partir

da mistura de dapsona padrão com excipientes (amido, lactose monohidratada e lauril sulfato de sódio) que são comuns a qualquer medicamento que possua a dapsona como princípio ativo.

4.8.1 Preparo da amostra

Foram preparadas duas amostras em triplicata. A amostra 1 foi preparada pela mistura de 100 mg de dapsona com 50 mg amido, e a amostra 2 preparada pela mistura de 100mg de dapsona com 50 mg amido, 50 mg lactose monohidratada e 50 mg lauril sulfato de sódio. Em seguida, as amostras foram solubilizadas em etanol e transferidas para um balão de 100 mL e completando seu volume com o mesmo solvente. Logo após, as amostras foram filtradas em papel de filtro qualitativo (QUALY). Transferiu-se com micropipeta 75 μ L da amostra filtrada para um balão volumétrico de 25,00 mL, adicionou-se 650 μ L de NaNO₂, 650 μ L de HCl, 900 μ L de 8-oxiquinolina e 900 μ L de NaOH e o volume completado com água destilada.

4.9 Estudos de interferentes

O efeito dos interferentes na determinação de dapsona em amostras farmacêuticas foi avaliada para os excipientes em formulações farmacêuticas. A finalidade desse estudo foi comparar os sinais analíticos obtidos utilizando os padrões de dapsona e os sinais analíticos obtidos utilizando os padrões de dapsona com os respectivos excipientes.

4.10 Estudo de efeito de matriz

Como forma de avaliar os possíveis efeitos de matriz foi utilizado o método de adição de padrão, no qual, incrementos de 0, 50, 100, 150 e 200% de solução-padrão foram adicionados a alíquotas das amostras contendo mesmo volume (SKOOG et al., 2006).

4.11 Aplicação analítica

O método foi aplicado para determinação de dapsona em amostras manipuladas contendo excipientes comumente encontrados em formulações farmacêuticas, com posterior tratamento estatístico dos dados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo da reação e determinação do comprimento de onda de máxima absorbância

No estudo da reação observou-se a formação de um composto de coloração vermelha (Figura 2).

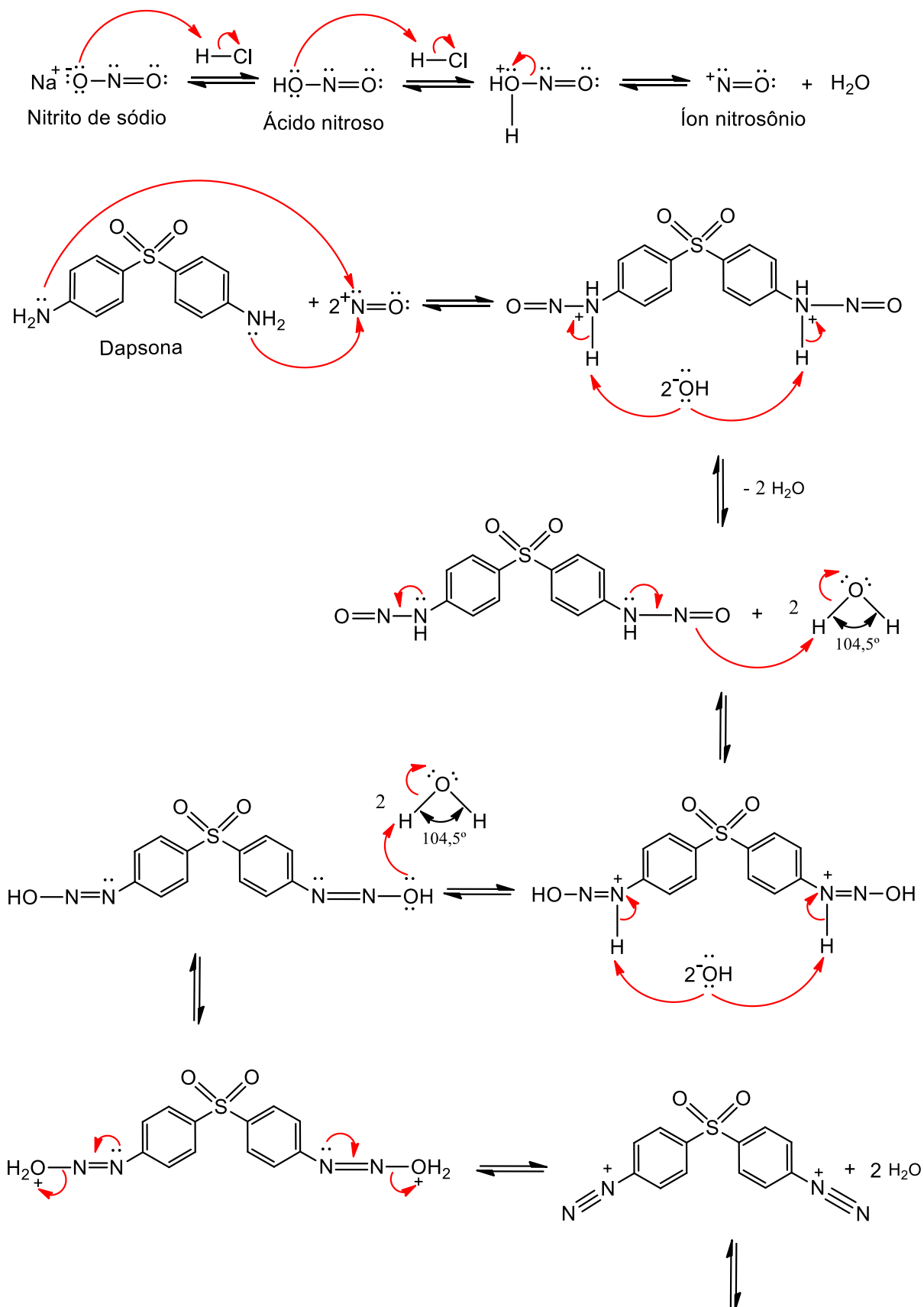
Figura 2 – Composto de coloração vermelha formado pela reação da dapsona com os demais reagentes.

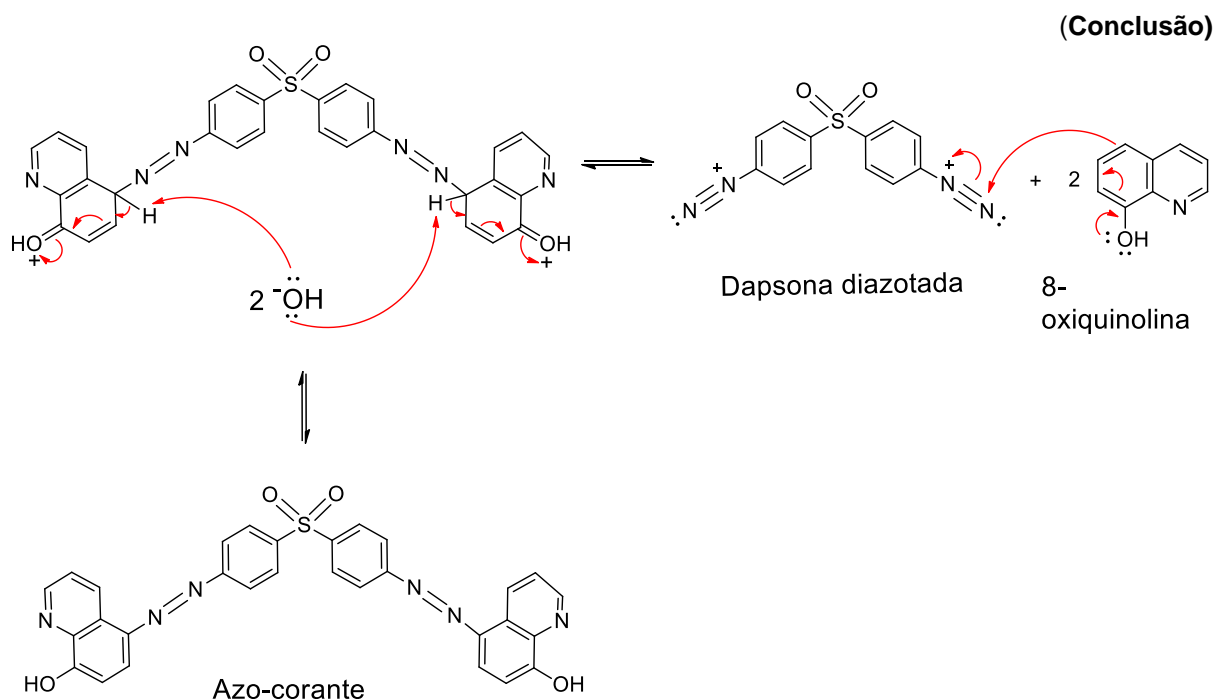


Fonte: Própria.

O método utilizado se baseia no mecanismo proposto da reação da dapsona (DAP) com ácido nitroso, produzido *in situ* pela adição de nitrito de sódio e ácido clorídrico (SUAREZ et al., 2005), para formar grupo azo ($-N=N-$) (VAZ e PITOMBO 1999) formando a dapsona diazotada, em seguida pela reação da dapsona diazotada com um agente de acoplamento 8-oxiquinolina nos dois grupos azo da molécula, produzindo o diazo-corante em meio alcalino (NaOH), ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Mecanismo proposto para a reação de diazotação da dapsona com o reagente cromogênico 8-oxiquinolína em meio alcalino. (continua)





Fonte: Própria.

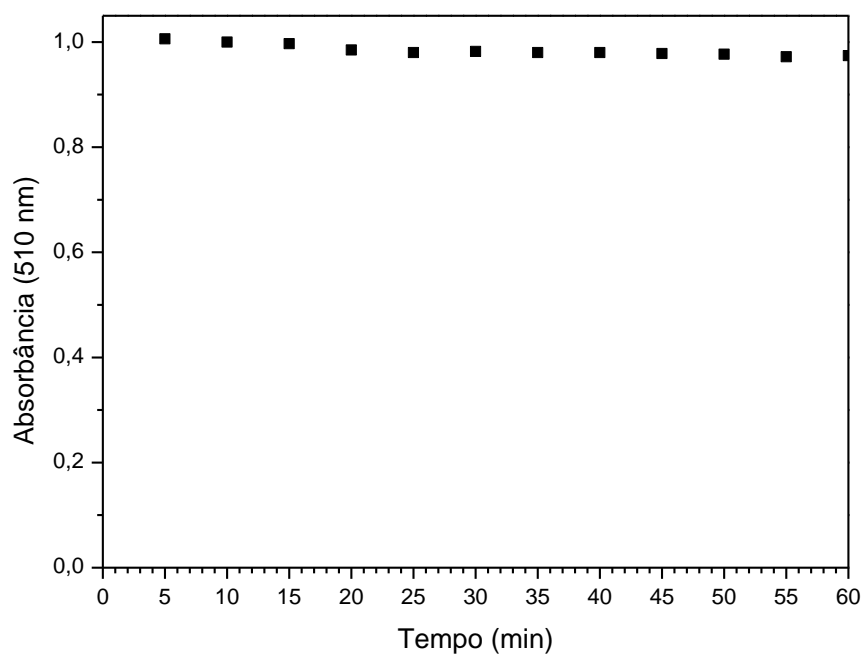
Após a varredura do espectro observou-se que a máxima absorbância do composto ocorreu em 510 nm.

5.2 Estudo da estabilidade óptica dos produtos

Para este estudo, 80 μL da solução estoque de dapsona foi transferida para um tudo de ensaio, seguido de 250 μL de NaNO_2 , 250 μL de HCl , 250 μL de 8-oxiquinolina, 250 μL de NaOH e o volume completado para 10 mL com água destilada. Os valores de absorbância dos produtos foram monitorados durante 60 minutos, em intervalos de 5 minutos no comprimento de onda de máxima absorbância ($\lambda_{\text{máx}} = 510 \text{ nm}$) em banho de gelo e a temperatura ambiente (25 $^{\circ}\text{C}$).

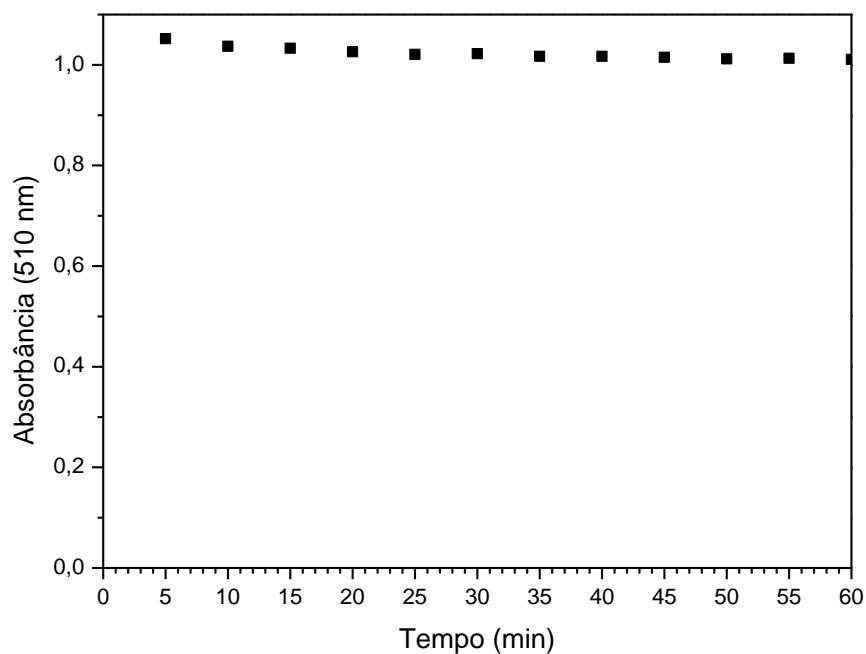
Pode-se visualizar, que o produto formado da reação da dapsona permaneceu estável por pelo menos 60 minutos, pois não houve variação significativa nos valores de absorbância em nenhuma das duas condições banho de gelo e a temperatura ambiente (25 $^{\circ}\text{C}$), como representado nas Figuras 4 e 5, respectivamente.

Figura 4 - Gráfico do estudo da estabilidade do composto formado com a dapsona em banho de gelo.



Fonte: Própria.

Figura 5 - Gráfico do estudo da estabilidade do composto formado com a dapsona a temperatura ambiente (25 °C).



Fonte: Própria.

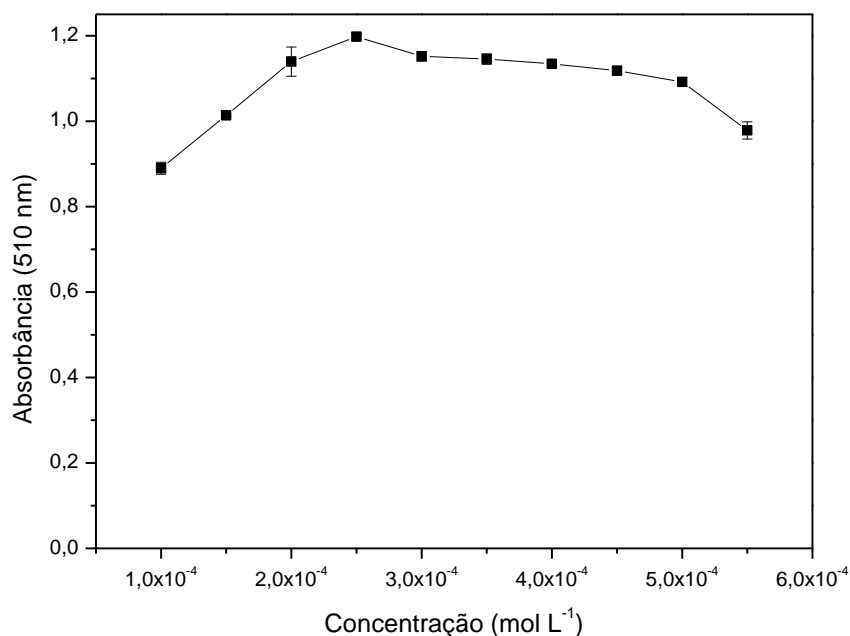
Diante disso, para maior comodidade e rapidez nas análises, optou-se por utilizar a reação a temperatura ambiente (25 °C).

5.3 Otimização das variáveis

A otimização das variáveis neste trabalho teve por finalidade maximizar os resultados das absorvâncias dos reagentes, com o intuito de melhorar as condições para se traçar a curva analítica e minimizar o desperdício de reagente.

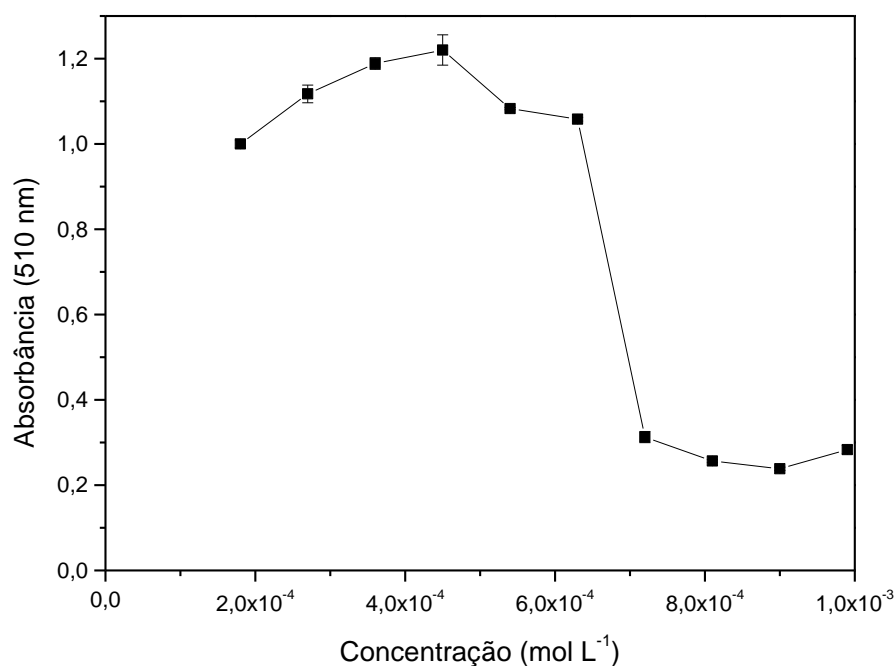
Inicialmente foi realizado o estudo da concentração do nitrito de sódio. Para isto, o volume de dapsona 80 μL ($3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), ácido clorídrico 250 μL ($4,52 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), 8-oxiquinolina 250 μL ($1,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e NaOH 250 μL ($5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foram fixados, e realizada a variação do NaNO_2 , na faixa $1,00 \times 10^{-4}$ a $5,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Observou-se na Figura 6 que houve um aumento no sinal da absorvância com o aumento da concentração até $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, acima desse valor ocorre um decréscimo na absorvância da solução. Diante desta observação, esse valor foi fixado para os demais experimentos.

Figura 6 - Gráfico da otimização do NaNO_2 .



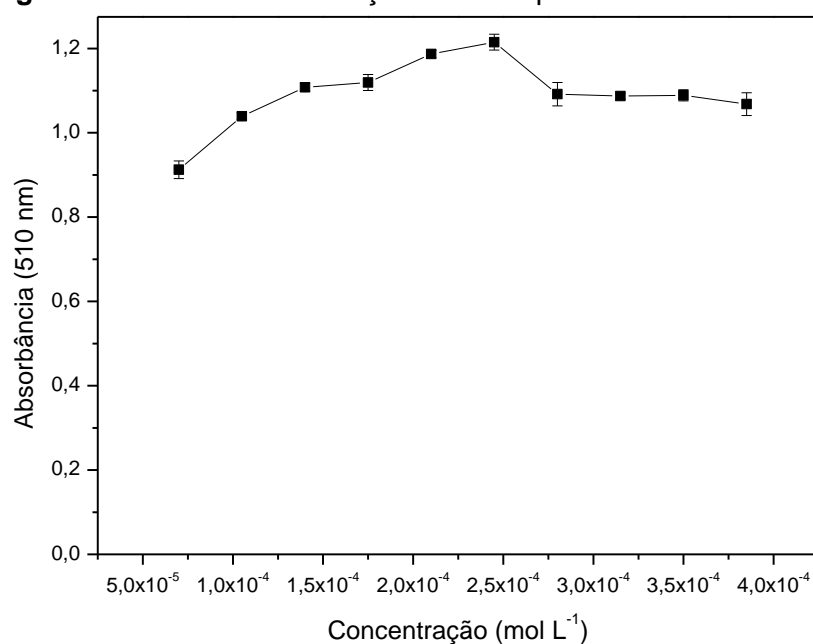
Fonte: Própria.

O volume de dapsona 80 μL ($3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), nitrito de sódio 250 μL ($2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), 8-oxiquinolina 250 μL ($1,76 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e NaOH 250 μL ($5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foram fixados, e realizada a variação do ácido clorídrico, na faixa $1,80 \times 10^{-4}$ a $9,90 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e apresentou um aumento na absorvância até a concentração de $4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (valor ótimo) como representado na Figura 7.

Figura 7 - Gráfico da otimização do HCl.

Fonte: Própria.

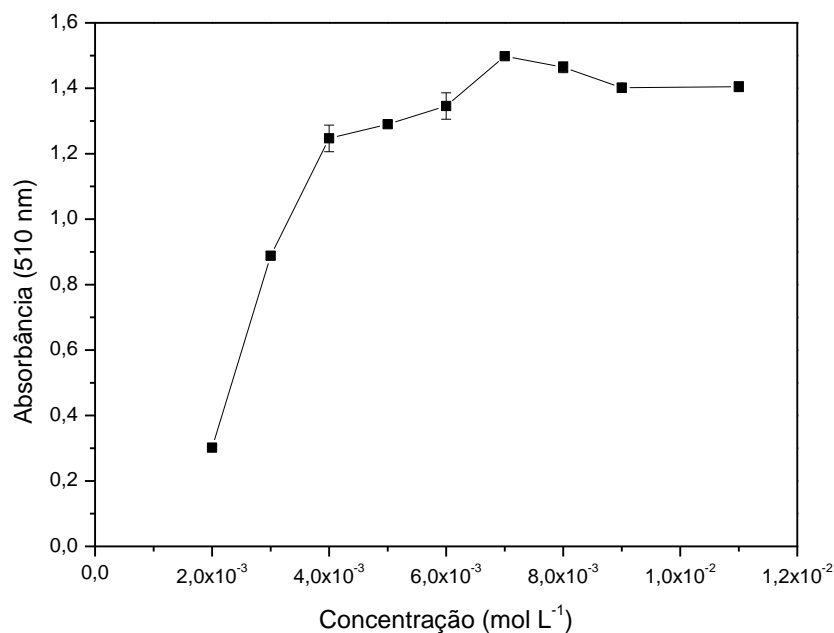
Posteriormente, o volume de dapsona $80 \mu\text{L}$ ($3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), nitrito de sódio $250 \mu\text{L}$ ($2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), ácido clorídrico $250 \mu\text{L}$ ($4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e NaOH $250 \mu\text{L}$ ($5,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foram fixados e avaliamos o reagente cromogênico 8-oxiquinolina (Figura 8), na faixa de concentração entre $7,00 \times 10^{-5}$ a $3,80 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e constatamos que o valor de $2,45 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi a que apresentou menor concentração com maior absorbância.

Figura 8 - Gráfico da otimização da 8-oxiquinolina.

Fonte: Própria.

Na última variável otimizada, o volume de dapsona 80 μL ($3,22 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), nitrito de sódio 250 μL ($2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), ácido clorídrico 250 μL ($4,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e 8-oxiquinolina 350 μL ($2,45 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) foi fixado. A influência do NaOH foi realizada na faixa de concentração entre $2,00 \times 10^{-3}$ a $1,10 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, na Figura 9 como podemos observar um aumento da absorbância até $7,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 9 - Gráfico da otimização do NaOH.



Fonte: Própria.

Na Tabela 1, está representado os valores otimizados dos reagentes utilizados na reação com a dapsona:

Tabela 1 – Condições estudadas e otimizadas do método.

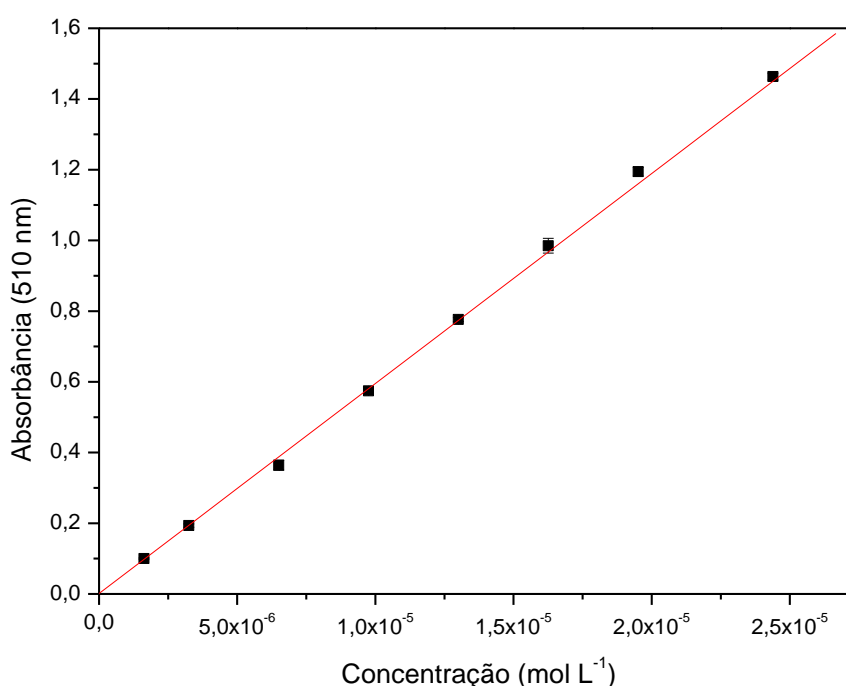
Variáveis estudadas	Faixa de concentração (mol L^{-1}) estudada	Valores otimizados (mol L^{-1})
NaNO_2	$1,00 \times 10^{-4}$ a $5,50 \times 10^{-4}$	$2,50 \times 10^{-4}$
HCl	$1,80 \times 10^{-4}$ a $9,90 \times 10^{-4}$	$4,50 \times 10^{-4}$
8-oxiquinolina	$7,00 \times 10^{-5}$ a $3,80 \times 10^{-4}$	$2,45 \times 10^{-4}$
NaOH	$2,00 \times 10^{-3}$ a $1,10 \times 10^{-2}$	$7,00 \times 10^{-3}$

5.4 Construção da curva analítica

Para a construção da curva analítica (Figura 10), foram utilizados soluções-padrão preparadas a partir de diluições da solução-padrão estoque, compreendendo concentrações na faixa de $1,62 \times 10^{-6}$ a $1,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A partir das otimizações realizadas, a curva analítica foi construída e determinado os resultados das figuras de mérito do método, que estão ilustrados na Tabela 2.

Figura 10 - Curva analítica para determinação da dapsona.



Fonte: Própria.

Tabela 2 – Resultado das figuras de mérito do método.

Parâmetros	Valores
λ (nm)	510
Faixa linear dinâmica / mol L^{-1}	$1,62 \times 10^{-6}$ a $1,95 \times 10^{-5}$
Limite de detecção / mol L^{-1}	$7,05 \times 10^{-8}$
Limite de quantificação / mol L^{-1}	$2,35 \times 10^{-7}$
Coeficiente linear (a)	$1,34 \times 10^{-3}$
Coeficiente angular (b)	$5,94 \times 10^4$
Coeficiente de correlação (R)	0,9998
Absortividade molar (ϵ) $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$5,97 \times 10^4$

Pode-se observar que o método desenvolvido apresentou uma ampla faixa de linearidade de $1,62 \times 10^{-6}$ a $1,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (402,2 a 4841,8 $\mu\text{g / L}$). Com relação a esse parâmetro, este método se apresenta muito superior à alguns métodos citados da literatura (LEMNGE et al., 1993; OMRAM, 2005; WANG et al., 2004; MA et al., 2002; CARR et al., 1978).

De acordo com a Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003) para que uma metodologia seja desenvolvida seu coeficiente de linearidade (obtido a partir da curva analítica) deve ser de no mínimo 0,99, o método desenvolvido obteve um coeficiente de correlação de 0,9998, o que caracteriza esse parâmetro dentro do padrão exigido.

5.5 Estudo de interferentes

O efeito dos excipientes presente em formulações de dapsona tais como: amido, lactose monohidratada e lauril sulfato de sódio foram avaliados. O estudo foi realizado com as concentrações dos excipientes sendo a metade da concentração do analito para a amostra 1 e 0,5 vezes maior que a concentração do analito para a amostra 2.

5.6 Estudo de efeito de matriz

O efeito de matriz foi analisado através da técnica de adição e recuperação de padrão. Dessa forma, foram incorporados valores de 0, 50, 100, 150 e 200% de solução-padrão à alíquotas das amostras de mesma concentração, e os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultado da adição de padrão da dapsona.

Amostra	Adicionado (mol L^{-1})	Recuperado (mol L^{-1}) \pm Sd	% Recuperada \pm Sd*
1	$4,06 \times 10^{-6}$	$3,94 \times 10^{-6} \pm 1,10 \times 10^{-7}$	$96,9 \pm 2,7$
	$8,13 \times 10^{-6}$	$8,11 \times 10^{-6} \pm 1,62 \times 10^{-7}$	$99,7 \pm 2,0$
	$1,22 \times 10^{-5}$	$1,24 \times 10^{-5} \pm 1,52 \times 10^{-7}$	$101,5 \pm 1,2$
	$1,62 \times 10^{-5}$	$1,67 \times 10^{-5} \pm 1,73 \times 10^{-7}$	$103,0 \pm 1,1$
2	$4,06 \times 10^{-6}$	$3,98 \times 10^{-6} \pm 5,92 \times 10^{-7}$	$96,9 \pm 2,3$
	$8,13 \times 10^{-6}$	$8,19 \times 10^{-6} \pm 2,02 \times 10^{-7}$	$100,3 \pm 3,2$
	$1,22 \times 10^{-5}$	$1,25 \times 10^{-5} \pm 1,85 \times 10^{-7}$	$102,0 \pm 1,6$
	$1,62 \times 10^{-5}$	$1,61 \times 10^{-5} \pm 2,87 \times 10^{-7}$	$98,8 \pm 1,4$

*Média \pm Desvio padrão (Sd), n = 3.

Como podemos observar na Tabela 3, a porcentagem média de recuperação da adição de padrão teve uma variação de 96,9 a 103,0% com desvio máximo de 3,2%. Esses resultados mostram que não houve efeito significativo de matriz, e são considerados excelentes. Essa pequena variação também nos mostra que o método é bastante preciso.

5.7 Aplicação analítica

O método desenvolvido foi aplicado para determinação de duas amostras manipuladas de dapsona e os resultados, assim como os tratamentos estatísticos estão ilustrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultado obtido pela aplicação do método e tratamentos estatísticos.

Amostra	Valor nominal*	Valor encontrado**	Erro	CV	IC 95%
1	100,0 mg	99,0 ± 0,6	- 1,0	0,6%	100,4 a 97,6
2	100,0 mg	100,3 ± 1,0	+ 0,3	1,0%	102,7 a 97,9

*100 mg/comprimido; ** Média + Desvio padrão (Sd), n = 3.

Como podemos observar na Tabela 4, o erro entre o valor verdadeiro e o valor encontrado para ambas as amostras foi muito pequeno indicando que o método apresenta uma excelente exatidão. De forma similar podemos observar que o desvio padrão entre os valores obtidos das amostras analisadas variaram entre 0,6 a 1,0 mg, evidenciando a precisão do método, assim como, o coeficiente de variação, que nos mostra o quanto o valor encontrado varia em termos percentuais (entre 0,6 e 1,0%). A média para as amostras 1 e 2, se encontram dentro do intervalo de confiança de 95%.

6 CONCLUSÕES

O método desenvolvido é simples, rápido, fácil de ser executado. O mesmo apresentou ampla faixa de linearidade na concentração de $1,62 \times 10^{-6}$ a $1,95 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (402,2 à 4841,8 µg / L). Os limites de detecção ($7,05 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹) e quantificação ($2,35 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) ficaram abaixo do intervalo de concentração investigado. Os resultados obtidos pela aplicação do método apresentaram excelentes resultados, mostrando que o método desenvolvido é preciso e exato, não apresentando interferência dos excipientes comumente presentes nestas formulações farmacêuticas.

Diante dos resultados obtidos, concluímos que o método apresenta-se como uma alternativa viável para quantificação de dapsona em formulações farmacêuticas, pois possibilita uma análise sensível e de baixo custo.

7 REFERÊNCIAS

- ALABURDA, J. et al. Sulfonamidas em leite por cromatografia líquida de alta eficiência com derivação pré-coluna e detecção por fluorescência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1587-1592, 2007.
- ALTENHEIN, D. O uso profilático da sulfanilamida em crianças portadoras de febre reumática inativa. **Revista de Medicina**, v. 30, n. 148, p. 235-236, 1948.
- ARAÚJO, M. G. Hanseníase no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 36, n. 3, p. 373-82, 2003.
- BERNABÉ, D. G. et al. Tratamento do pênfigo vulgar oral com corticosteróides tópicos e sistêmicos associados a dapsona e pentoxifilina. **Revista de odontologia da UNESP**, v. 34, n. 1, p. 49-55, 2005.
- BOSCHEN, N. L. et al. Estudo eletroanalítico e determinação da dapsona por SWV utilizando eletrodo de diamante dopado com boro. **Trends in Bioscience e Biotechnology**. v. 1. p. 22-26, 2014
- BRASIL. Resolução RE nº 899, de 29/05/2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de maio de 2003.
- CARNEIRO, J. A. et al. Agranulocitose induzida por dapsona em paciente com hanseníase. Relato de caso. **Carlos Chagas, sua vida e sua arte**, v. 9, n. 3, p. 242-244, 2011.
- CARR, K. et al. Simultaneous analysis of dapsone and monoacetyldapsone employing high performance liquid chromatography: a rapid method for determination of acetylator phenotype. **British journal of clinical pharmacology**, v. 6, n. 5, p. 421-427, 1978.
- CASTILHO, L. S. et al. Prescrição de medicamentos de uso sistêmico por cirurgiões-dentistas, clínicos gerais. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 3, p. 287-294, 1999.
- COLE, S. T. et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. **Nature**, v. 409, n. 6823, p. 1007-1011, 2001.
- DE MORAES, N. V. et al. Potencialização do efeito metemoglobinizante da dapsona em ratos pela N-acetilcisteína. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 97-104, 2008.
- DOURADO, R. F. M. et al. Acometimento hepático na síndrome sulfona dapsona-induzida durante tratamento de hanseníase. **RBM Revista Brasileira de Medicina**, v. 70, n. esp, 2, 2013.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4. ed. Brasília: **ANVISA**, v. 2. 2000.
- FUNDAÇÃO PARA O REMÉDIO POPULAR - FURP**. Furp-Dapsona.01 dez. 2015. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=10545582015&pIdAnexo=2979433>. Acesso em: 18 out. 2016.

GARCIA, C. H. **Tabelas para classificação do coeficiente de variação**. IPEF, 1989. 11 p., 1989.

International Conference on Harmonisation: ICH Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**. Q2(R1), nov. 2005. p. 13.

HADJIGEORGIOU, M. et al. Determination of dapsone in meat and milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 637, n. 1, p. 220-224, 2001.

HALL, R. P. et al. Bullous eruption of systemic lupus erythematosus: dramatic response to dapsone therapy. **Annals of internal medicine**, v. 97, n. 2, p. 165-170, 1982.

HARRIS, D. C. **Quantitative Chemical Analysis**. 8ª ed. New York: W. H. Freeman and Company. 2010. 719p.

KWADIJK, S.; TORAÑO, J. S. High-performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of dapsone and its hydroxylated metabolite in human plasma. **Biomedical Chromatography**, v. 16, n. 3, p. 203-208, 2002.

JACKSON, L. D. et al. Quinolonas y terapia antimicrobiana. **Acta medica**, v. 8, n. 1, p. 58-65, 1998.

JOB, A. et al. Medical therapy of rhinosporidiosis with dapsone. **The Journal of Laryngology & Otology**, v. 107, n. 09, p. 809-812, 1993.

LACHMAN, L. et al. Controle e garantia de qualidade. In: LACHMAN, L. et al. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Trad. João F. Pinto et al. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 2. p. 1357-1439.

LEMNGE, M. M. et al. Simultaneous determination of dapsone, monoacetyldapsone and pyrimethamine in whole blood and plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 613, n. 2, p. 340-346, 1993.

LETA, G. C. et al. Síndrome de hipersensibilidade à dapsona: revisão sistemática dos critérios diagnósticos. **Hansenol. Int**, v. 28, p. 79-84, 2003.

LU, F. et al. Flow injection chemiluminescence sensor using core-shell molecularly imprinted polymers as recognition element for determination of dapsone. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 404, n. 1, p. 79-88, 2012.

LYNCH, C. et al. Tratamiento de la disébasea y la rosacea con sulfacetamida. **Dermatología Venezolana**, v. 35, n. 1, 1997.

MA, L. et al. Spectrofluorimetric study of the β -cyclodextrin–dapsone–linear alcohol supramolecular system and determination of dapsone. **Analytica Chimica Acta**, v. 469, n. 2, p. 273-283, 2002.

MARQUES, G. F. et al. Esquema alternativo para tratamento de hanseníase multibacilar em um caso de hepatotoxicidade durante a poliquimioterapia.

Hansenologia Internationalis, v. 37, n. 2, p. 81-85, 2012.

MARTINS, G. B. C. et al. A química e as cores. **Revista Virtual de Química**. vol. 7, n. 4, p. 1508-1534, 2015.

MEDINA, I. et al. Oral Therapy for *Pneumocystis carinii* Pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome: A Controlled Trial of Trimethoprim - Sulfamethoxazole versus Trimethoprim - Dapsone. **New England journal of medicine**, v. 323, n. 12, p. 776-782, 1990.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Normas técnicas para a eliminação da Hanseníase no Brasil**. 2ª ed. Antônio Barbosa de Sousa Filho: Brasília, 2001. 43 p.

MONCRIEFF, J. Determination of dapsone in serum and saliva using reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet or electrochemical detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 654, n. 1, p. 103-110, 1994.

MOTA, R. A. et al. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

MUTABINGWA, T. et al. Chlorproguanil-dapsone for treatment of drug-resistant falciparum malaria in Tanzania. **The Lancet**, v. 358, n. 9289, p. 1218-1223, 2001.

OMRAN, A. A. Individual and simultaneous spectrophotometric determination of dapsone and metoclopramide HCl in pharmaceutical dosage forms and synthetic binary mixtures. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 53, n. 11, p. 1498-1501, 2005.

OLIVEIRA, J. F. et al. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular/Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 21, n. 4, p. 444-452, 2006.

OLIVIERI, A. C. et al. Uncertainty estimation and figures of merit for multivariate calibration (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 3, p. 633-661, 2006.

OPROMOLLA, V. A. **Terapêutica**. out. 2016. Disponível em:
<http://hansen.bvs.isl.br/textoc/livros/OPROMOLLA_DILTOR_nocoas/PDF/terap.pdf>
. Acesso em: 18 out. 2016.

PEIXOTO, M. M. et al. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em Feira de Santana-BA. **Infarma**, v. 16, n. 13-14, p. 69-73, 2005.

PUGENS, A. M. et al. Controle de qualidade total e equivalência farmacêutica de três apresentações de captopril. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 1, 2008.

RAGONHA, A. C. O. et al. Avaliação microbiológica de coberturas com sulfadiazina de prata a 1%, utilizadas em queimaduras. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 13, n. 4, 2005.

REVANASIDDAPPA, H. D.; MANJU, B. A spectrophotometric method for the determination of metoclopramide HCl and dapsone. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 25, n. 3, p. 631-637, 2001.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, No. 5, p. 771-780, 2004.

RIVITTI, E. A. **Manual de dermatologia de Sampaio e Rivitti**. São Paulo: Artes Médicas, 2014. 735 p.

RUFINO, J. L. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para controle de qualidade de fármacos, utilizando-se técnicas espectroscópicas (NIR e MID) e processos de calibração multivariada (pls)**. 2004. 116 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

RUFINO, J. L. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de tetraciclina, doxiciclina, azitromicina, norfloxacin e ciprofloxacina em formulações farmacêuticas**. 2009. 146 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista de Araraquara, São Paulo, 2009.

RUZICKA, T.; GOERZ, G. Dapsone in the treatment of lupus erythematosus. **British Journal of Dermatology**, v. 104, n. 1, p. 53-57, 1981.

SKOOG, A. D. et al. **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, São Paulo: Editora Thomson, 2006. 1058 p.

SPERANÇA, P. A. et al. Sensibilidade dos *S. aureus* aos betalactâmicos e glicopeptídeos ("Estudo in vitro"). **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial**, v. 10, n. 4, p. 39-44, 2010.

SUAREZ, W. T. et al. O. Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos empregando um sistema de análise por injeção em fluxo com geração de ácido nítrico. **Eclética Química**, v. 30, n. 1, 2005.

TOKER, I. et al. Methemoglobinemia caused by dapsone overdose: Which treatment is best?. **Turkish Journal of Emergency Medicine**, v. 15, n. 4, p. 182-184, 2015.

VAZ, J. M.; PITOMBO, L. R. de M. IMOBILIZAÇÃO DE 8-HIDROXIQUINOLEÍNA EM SÍLICA GEL. MELHORIAS NA TRADICIONAL ROTA DE DIAZOTAÇÃO. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 345, 1999.

WANG, H. Y. et al. Spectrophotometric determination of dapsone in pharmaceutical products using sodium 1, 2-naphthoquinone-4-sulfonic as the chromogenic reagent. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 60, n. 12, p. 2933-2939, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly epidemiological record**. v. 87, n. 34, p. 317-328, 2012.

ZETTLER, F. R. et al. Estudo fenotípico e genotípico da resistência aos macrolídeos de "*Streptococcus pneumoniae*" isolados em hospitais de Porto Alegre-RS. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 4, p. 312-7, 2005.